

· 临床研究 ·

## 外周血 Circ\_0070934/miR-199a-5p/MGAT3 作为生物标志物在过敏性鼻炎-哮喘综合征中的诊断价值

胡钰洁, 吴迪, 黄燕华, 刘志光, 施宇佳, 张倩\*

南京医科大学附属常州第二人民医院呼吸与危重症医学科, 江苏 常州 213003

**[摘要]** 目的: 评估外周血 circ\_0070934/miR-199a-5p/MGAT3 在过敏性鼻炎-哮喘综合征(combined allergic rhinitis and asthma syndrome, CARAS)中的诊断价值。方法: 收集 CARAS 患者 38 例和健康对照 43 例, 采集外周静脉血, 采用 ELISA 法检测血浆中 MGAT3 蛋白水平, 采用 qRT-PCR 检测外周血中 circ\_0070934/miR-199a-5p/MGAT3 的表达水平。ROC 曲线判断指标的诊断灵敏度与特异度。结果: ELISA 结果显示, CARAS 患者中 MGAT3 的浓度较对照组明显下降( $P=0.035$ )。qRT-PCR 结果显示, circ\_0070934( $P=0.001$ )与 MGAT3( $P < 0.001$ )的表达较对照组下调, 而 miR-199a-5p 的表达水平上调( $P=0.013$ )。相关性分析结果显示, MGAT3 与嗜酸性粒细胞直接计数、嗜酸性粒细胞百分比呈正相关; circ\_0070934 与二者呈负相关。ROC 曲线分析, MGAT3 为最佳参数, 取界值为 0.208 时, 其灵敏度和特异度分别为 73.7% 和 100.0%, AUC 为 0.933 (95%CI: 0.882~0.984,  $P < 0.001$ ); circ\_0070934、miR-199a-5p 和 MGAT3 3 个指标联合时, 对 CARAS 的诊断价值最高, 取界值为 0.539 时, 灵敏度为 92.1%, 特异度为 93.0%, AUC 为 0.959 (95%CI: 0.916~1.000,  $P < 0.001$ )。结论: CARAS 患者外周血 circ\_0070934/miR-199a-5p/MGAT3 的表达存在差异, 可作为诊断 CARAS 的生物标志物。进一步研究 circ\_0070934/miR-199a-5p/MGAT3 在 CARAS 中的具体作用和机制, 有助于发现 CARAS 新的诊治靶点。

**[关键词]** 过敏性鼻炎-哮喘综合征; circ\_0070934; miR-199a-5p; MGAT3; 生物标志物

**[中图分类号]** R562.2

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2022)09-1279-08

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20220913

## Diagnostic value of circ\_0070934/mir-199a-5p/MGAT3 in peripheral blood as a biomarker in combined allergic rhinitis and asthma syndrome

HU Yujie, WU Di, HUANG Yanhua, LIU Zhiguang, SHI Yujia, ZHANG Qian\*

Department of Respiratory and Critical Care Medicine, the Affiliated Changzhou NO.2 People's Hospital of Nanjing Medical University, Changzhou 213003, China

**[Abstract]** **Objective:** This study aims to evaluate the diagnostic value of peripheral blood circ\_0070934/miR-199a-5p/MGAT3 in combined allergic rhinitis and asthma syndrome (CARAS). **Methods:** Peripheral venous blood was collected from 38 CARAS patients and 43 healthy controls. Plasma MGAT3 protein level was detected by ELISA, and the expression level of circ\_0070934/miR-199a-5p/MGAT3 in peripheral blood was detected by quantitative real-time PCR (qRT-PCR). Diagnostic sensitivity and specificity were determined by ROC curve. **Results:** ELISA results showed that MGAT3 concentration in CARAS patients was significantly lower than that in control group ( $P=0.035$ ). The circ\_0070934 ( $P=0.001$ ) and MGAT3 mRNA expressions ( $P < 0.001$ ) in CARAS patients were down-regulated when compared with control group, while miR-199a-5p was up-regulated ( $P=0.013$ ). Correlation analysis showed that MGAT3 was positively correlated with the count of eosinophils and the percentage of eosinophils, while circ\_0070934 showed a negative correlation. ROC curve analysis indicated that MGAT3 was the best parameter. When the cut-off value was 0.208, the sensitivity and specificity were 73.7% and 100.0%, respectively, and the AUC was 0.933 (95% CI: 0.882~0.984,  $P < 0.001$ ). The combination of circ\_0070934, miR-199a-5p and MGAT3 had the highest diagnostic value for CARAS. When the cut-off value was

**[基金项目]** 江苏省社会发展项目(BE2020651);江苏省第五期“333”高层次人才项目(BRA2020015);常州市科技项目(CE20205023)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: qianzhang@njmu.edu.cn

0.539, the sensitivity was 92.1%, the specificity was 93.0%, and the AUC was 0.959 (95%CI: 0.916~1.000,  $P < 0.001$ ). **Conclusion:** Altered expressions of circ\_0070934/miR-199a-5p/MGAT3 were confirmed in the peripheral blood of CARAS patients, which can be used as a biomarker for the diagnosis of CARAS. Further researches on the specific role and mechanism of circ\_0070934/miR-199a-5p/MGAT3 in CARAS will help to discover new diagnostic and therapeutic targets of CARAS.

[Key words] combined allergic rhinitis and asthma syndrome (CARAS); circ\_0070934; miR-199a-5p; MGAT3; biomarker

[J Nanjing Med Univ, 2022, 42(09): 1279-1286]

支气管哮喘(哮喘)是一种反复发作的慢性气道疾病,以慢性气道炎症、气道高反应、可逆性气流受限和气道重塑为特征,表现为反复发作的喘息、气促、胸闷、咳嗽等呼吸道症状<sup>[1]</sup>。过敏性鼻炎和哮喘分别表现为上呼吸道和下呼吸道炎症,两者在病因、免疫学和发生机制等方面均极为相似,因此,根据“同一气道、同一疾病”概念,近年来提出过敏性鼻炎-哮喘综合征(combined allergic rhinitis and asthma syndrome, CARAS)这一新医学诊断名称,指同时发生的临床或亚临床上呼吸道过敏(过敏性鼻炎)和下呼吸道过敏性症状(哮喘)<sup>[2]</sup>。

非编码RNA(non-coding RNA, ncRNA)是指转录组中不翻译为蛋白质的RNA分子,包括长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)、微小RNA(microRNA, miRNA)、环形RNA(circular RNA, circRNA)等<sup>[3]</sup>。ncRNA在过敏性疾病(包括过敏性鼻炎和哮喘)的发生发展中发挥重要作用,参与了气道炎症应答、气道重塑、气道高反应、上皮分化、黏液生成等重要过程,并有望成为疾病诊断的生物标志物和治疗靶标<sup>[4]</sup>。研究报道,miR-199a-5p在中性粒细胞哮喘患者外周血及诱导痰液中的表达升高,并且和肺功能呈负相关<sup>[5]</sup>,但在CARAS患者中的表达水平变化及相关研究未见文献报道。本研究通过circBANK基因库预测到环形RNA circ\_0070934与miR-199a-5p结合,并且通过Targetscan预测miR-199a-5p靶向调控甘露糖贰乙酰氨基葡萄糖转移酶(mannoside acetylglucosaminyltransferase 3, MGAT3)。本研究旨在通过比较CARAS患者和健康对照外周血中circ\_0070934/miR-199a-5p/MGAT3的表达差异,探讨其作为CARAS早期诊断生物标志物的价值,评估其与CARAS患者相关临床指标之间的相关性,为进一步研究其在CARAS发生发展中的机制打下基础。

## 1 对象和方法

### 1.1 对象

本研究于2020年7月—2021年12月在南京医

科大学附属常州二院呼吸与危重症医学科门诊收集38例CARAS患者和43例性别、年龄匹配的健康对照。过敏性鼻炎诊断标准参照中国过敏性鼻炎诊治指南<sup>[6]</sup>,哮喘诊断根据我国2020版支气管哮喘防治指南<sup>[7]</sup>,CARAS的诊断须同时符合过敏性鼻炎和哮喘的诊断标准。正常对照组为健康志愿者,无哮喘和过敏性鼻炎病史,无其他过敏性及免疫系统疾病等。CARAS患者为初诊患者,未使用抗哮喘药物。所有受试者均需排除合并感染、肺栓塞、慢性阻塞性肺疾病、肺结核、血液系统疾病及肝功能异常等疾病,均进行血常规、肝功能、肾功能、血糖、血脂以及心电图等检查以排除基础疾病。所有受试者均需签署知情同意书,本研究获得南京医科大学附属常州二院伦理委员会批准(批件号:[2020]KY213-01)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 采集血液样本

用EDTA抗凝管收集患者和健康对照的静脉外周血10 mL,其中5 mL低速离心机3 000 r/min离心10 min,分离血清,用于ELISA测量MGAT3蛋白水平;另留存5 mL全血用于qRT-PCR测定circ\_0070934、miR-199a-5p及MGAT3的表达水平。所有受试者的血液样本均储存于-80℃。

#### 1.2.2 ELISA测定

人MGAT3 ELISA试剂盒(上海科兴生物科技有限公司)对CARAS患者和对照组血清样本中MGAT3的含量进行检测,严格按照试剂盒说明书进行实验和操作。

#### 1.2.3 qRT-PCR检测

使用RNAliquid超速全血总RNA提取试剂盒(北京汇天东方科技有限公司)提取总RNA,实验步骤按照说明书进行。使用紫外线分光光度计对提取的RNA浓度及纯度进行检测。采用FastQuant cDNA第一链合成试剂盒(北京天根生化科技有限公司)进行反转录,合成mRNA cDNA/circRNA cDNA。采用miRNA第一链cDNA合成(加尾法)(上海生工

生物工程股份有限公司)进行反转录。使用 Super-Real PreMix Plus (SYBR Green) (北京天根生化科技有限公司)对 mRNA 和 circRNA 进行扩增,使用 miRNA 荧光定量 PCR 试剂盒(染料法)(上海生工生物工程股份有限公司)对 miRNA 进行扩增,用 ABI 7300 型荧光定量 PCR 仪,采用  $2^{-\Delta\Delta CT}$  法进行数据的相对定量分析。circ0070934 的内参为 GAPDH, MGAT3 的内参为 GAPDH+ACTB, miRNA 的内参为 U6。MGAT3、circ\_0070934、ACTB、GAPDH 的上下游引物和 miR-199a-5p 的上游引物由北京博迈德公司合成,U6 的上下游引物和 miR-199a-5p 的下游引物为 miRNA 荧光定量 PCR 试剂盒提供的通用引物。引物序列如下:MGAT3(F:5'-TCCTGTTTCCCTCACTGTGC-3'; R:3'-ACACACGCACAA-ACATGAGC-5'); circ\_0070934(F:5'-GGTGAAAG-GACTGATCAACCAT-3'; R:5'-TGTCTTGAGCTT-TCCTGCCT-3'); miR-199a-5p(F:5'-CCCAGTGTT-CAGACTACCTGTTC-3'); ACTB(F:5'-TCCGCAAA-GACCTGTACGC-3'; R:5'-CTGGAAGGTGGACAGC-GAG-3'); GAPDH(F:5'-TCGACAGTCAGCCGCATCTTCTTT-3', R:5'-ACCAAATCCGTTGACTCCGACCTT-3')。

### 1.3 统计学方法

采用 SPSS 21.0 统计软件,计量资料采用 Kolmogorov-Smirnov 检验进行正态性检验,对符合正态分布的计量资料以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,不符合正态分布的计量资料以中位数(四分位数)[ $M(P_{25}, P_{75})$ ]表示,分类变量资料以比例表示,两样本比较采用 *t* 检验(正态分布的资料)或 Mann-Whitney *U* 检验(非正态分布资料),相关关系采用 Pearson 相关分析(正态分布的资料)或 Spearman 秩相关分析(非正

态分布的资料),受试者操作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线判断诊断灵敏度与特异度,通过曲线下面积(area under the curve, AUC)判断诊断效果,AUC=0.5,无诊断价值,AUC 越接近 1,提示诊断越准确, $P < 0.05$  为差异有统计学意义(双尾法)。

## 2 结果

### 2.1 研究对象的临床特征

本研究纳入 38 例 CARAS 患者及 43 例健康对照,两组年龄、性别、体重指数(body mass index, BMI)匹配。与健康对照组相比,CARAS 组患者肺功能第 1 秒用力呼气容积占预计值百分比(percent predicted forced expiratory volume in one-second, FEV<sub>1</sub>% pred)及第 1 秒用力呼气容积占用力肺活量比值(the first second forced expiratory volume ratio of forced vital capacity, FEV<sub>1</sub>/FVC)显著降低( $P < 0.05$ ),而嗜酸性粒细胞(eosinophils, EOS)绝对值、EOS 比例及呼出气一氧化氮(FeNO)明显高于对照组( $P < 0.001$ ,表 1)。

### 2.2 CARAS 组与健康对照组血浆 MGAT3 的表达水平

ELISA 实验结果显示,CARAS 组患者外周血血浆 MGAT3 的表达量( $0.20 \pm 0.05$ )较对照组( $0.32 \pm 0.31$ )明显下降( $P=0.035$ ,图 1)。

### 2.3 CARAS 组与健康对照组 circ\_0070934、miR-199a-5p 及 MGAT3 的表达水平

qRT-PCR 结果显示,与健康对照组相比, MGAT3 在 CARAS 组中表达明显降低(图 2A,  $P < 0.001$ ), circ\_0070934 在 CARAS 组中表达也明显降低(图 2B,  $P=0.001$ ),而 miR-199a-5p 的表达量则明显上调(图 2C,  $P=0.013$ )。

表 1 研究对象临床特征

Table 1 Clinical characteristics of subjects

临床特征	CARAS 组( $n=38$ )	健康对照组( $n=43$ )	<i>P</i> 值
性别[ $n(\%)$ ]			0.653
男	22(57.9)	27(62.8)	
女	16(42.1)	16(37.2)	
年龄(岁, $\bar{x} \pm s$ )	40.73 ± 13.65	40.30 ± 10.40	0.738
BMI( $\text{kg}/\text{m}^2$ , $\bar{x} \pm s$ )	25.30 ± 3.46	26.43 ± 3.51	0.606
FEV <sub>1</sub> % pred( $\bar{x} \pm s$ )	88.19 ± 27.27	108.00 ± 8.67	0.024
FEV <sub>1</sub> /FVC[% , $M(P_{25}, P_{75})$ ]	73.55(67.13, 82.00)	83.00(97.70, 114.10)	0.016
EOS[ $\times 10^9$ 个/L, $M(P_{25}, P_{75})$ ]	0.36(0.20, 0.71)	0.12(0.07, 0.21)	<0.001
EOS 比例(% , $\bar{x} \pm s$ )	6.00 ± 4.38	1.80 ± 1.33	<0.001
FeNO[ppb, $M(P_{25}, P_{75})$ ]	61.00(26.50, 93.50)	19.00(14.00, 27.00)	<0.001

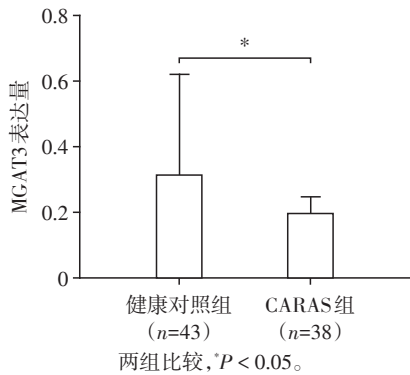


图1 CARAS组与健康对照组血浆MGAT3的表达水平  
Figure 1 Expression level of plasma MGAT3 in CARAS group and healthy control group

2.4 circ\_0070934/MGAT3/miR-199a-5p与CARAS患者临床指标的相关性

CARAS患者外周血MGAT3 mRNA水平与EOS

绝对值( $r=0.412, P=0.011$ )、EOS比例呈正相关( $r=0.469, P=0.003$ )，circ\_0070934与EOS绝对值( $r=-0.516, P=0.001$ )、EOS比例呈负相关( $r=-0.348, P=0.035$ ) (表2, 图3)。MGAT3、circ\_0070934与FeNO、FEV<sub>1</sub>%pred及FEV<sub>1</sub>/FVC没有相关性。miR-199a-5p与EOS绝对值、EOS比例、FeNO、FEV<sub>1</sub>%pred及FEV<sub>1</sub>/FVC均没有明显相关性(表2)。

2.5 circ\_0070934/miR-199a-5p/MGAT3在CARAS中的诊断效果

ROC曲线分析以评估MGAT3、miR-199a-5p和circ0070934作为CARAS生物标志物的价值(表3、图4)。当界值(cut-off value)为0.208时，MGAT3 mRNA作为CARAS生物标志物的灵敏度为73.7%，特异度为100.0%，AUC为0.933(95%CI: 0.882~0.984,  $P < 0.001$ )，此指标作为CARAS生物标志物

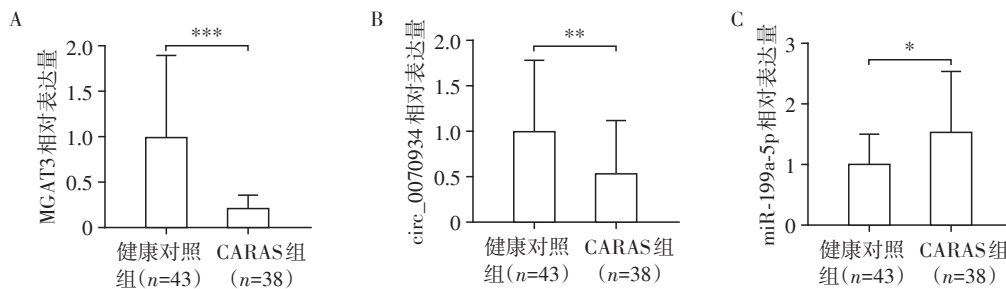


图2 CARAS组与健康对照组外周血中MGAT3、miR-199a-5p和circ\_0070934表达水平  
A: MGAT3在CARAS组和健康对照组中的表达(两组比较,  $P < 0.001$ ); B: circ\_0070934在CARAS组和健康对照组中的表达(两组比较,  $P = 0.001$ ); C: miR-199a-5p在CARAS组和健康对照组中的表达(两组比较,  $P = 0.013$ )。

表2 circ\_0070934/miR-199a-5p/MGAT3与CARAS患者临床指标的相关性

Table 2 Correlation between circ\_0070934/miR-199a-5p/MGAT3 and clinical indexes of CARAS patients

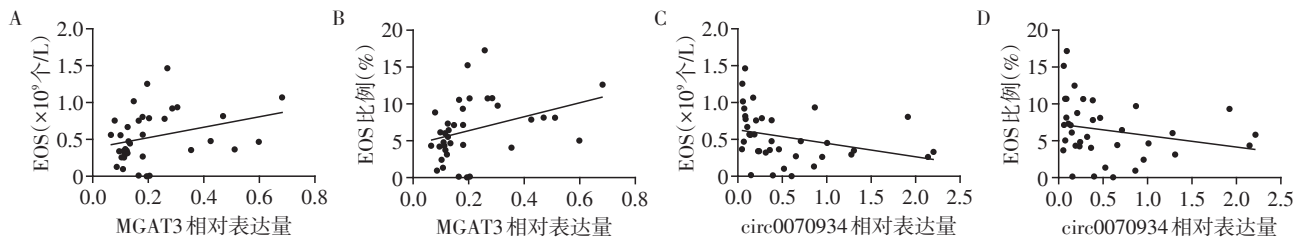
指标		EOS	EOS比例	FeNO	FEV <sub>1</sub> %pred	FEV <sub>1</sub> /FVC
MGAT3	r值	0.412	0.469	0.268	0.025	-0.060
	P值	0.011	0.003	0.132	0.884	0.772
miR-199a-5p	r值	0.261	0.236	0.339	0.123	0.101
	P值	0.118	0.159	0.053	0.469	0.552
circ0070934	r值	-0.516	-0.348	-0.139	-0.005	0.029
	P值	0.001	0.035	0.441	0.974	0.864

的诊断价值最佳。多因素联合诊断ROC曲线分析(表3、图5)，当界值为0.539时，MGAT3、miR-199a-5p与circ\_0070934作为联合诊断CARAS的生物标志物的灵敏度为92.1%，特异度为93.0%，AUC为0.959(95%CI: 0.916~1.000,  $P < 0.001$ )。

3 讨论

过敏性鼻炎和哮喘被认为是同一疾病的两种

表现,80%的哮喘患者患有过敏性鼻炎,而60%的过敏性鼻炎会发展为哮喘<sup>[2,8]</sup>。目前CARAS的诊断主要参照过敏性鼻炎和哮喘的两个诊治指南,尚无CARAS相关诊断生物标志物的报道。本研究首次在CARAS患者外周血中检测circ\_0070934/miR-199a-5p/MGAT3水平,发现circ\_0070934与MGAT3的表达较健康对照下调,而miR-199a-5p的表达水平上调。



A: MGAT3 mRNA与外周血EOS绝对值的关系( $r=0.412, P=0.011$ ); B: MGAT3 mRNA与外周血EOS比例的关系( $r=0.469, P=0.003$ ); C: circ\_0070934与外周血EOS绝对值的关系( $r=-0.516, P=0.001$ ); D: circ\_0070934与外周血EOS比例的关系( $r=-0.348, P=0.035$ )。

图3 circ\_0070934/MGAT3与CARAS患者临床指标的相关性

Figure 3 Correlation between circ\_0070934 / MGAT3 and clinical indexes of CARAS patients

表3 MGAT3、miR-199a-5p和circ\_0070934作为CARAS生物标志物的价值

Table 3 Value of MGAT3, miR-199a-5p, circ\_0070934 as biomarkers of CARAS

指标	界值	灵敏度(%)	特异度(%)	曲线下面积	95% CI	P值
MGAT3 mRNA	0.208	73.7	100.0	0.933	0.882~0.984	<0.001
miR-199a-5p	1.166	55.3	72.1	0.661	0.543~0.779	0.013
circ_0070934	0.620	71.1	69.8	0.717	0.604~0.829	0.001
MGAT3蛋白	0.191	54.5	74.3	0.673	0.545~0.800	0.014
MGAT3 mRNA+miR-199a-5p	0.557	89.5	88.4	0.946	0.874~0.994	<0.001
MGAT3 mRNA+circ_0070934	0.423	92.1	83.7	0.944	0.885~0.989	<0.001
MGAT3 mRNA+MGAT3蛋白	0.761	75.8	97.1	0.932	0.877~0.988	<0.001
miR-199a-5p+circ_0070934	0.389	84.2	53.5	0.722	0.542~0.800	0.015
miR-199a-5p+MGAT3蛋白	0.454	78.8	60.0	0.720	0.600~0.841	0.002
circ_0070934+MGAT3蛋白	0.521	72.7	68.6	0.736	0.619~0.853	0.001
MGAT3 mRNA+miR-199a-5p+circ_0070934	0.539	92.1	93.0	0.959	0.891~1.000	<0.001
MGAT3 mRNA+miR-199a-5p+MGAT3蛋白	0.585	87.9	88.6	0.939	0.886~0.993	<0.001
MGAT3 mRNA+circ_0070934+MGAT3蛋白	0.443	93.9	82.9	0.943	0.894~0.992	<0.001
miR-199a-5p+circ_0070934+MGAT3蛋白	0.529	66.7	68.6	0.740	0.625~0.856	0.001
MGAT3 mRNA+miR-199a-5p+circ_0070934+MGAT3蛋白	0.486	90.9	88.6	0.948	0.900~0.996	<0.001

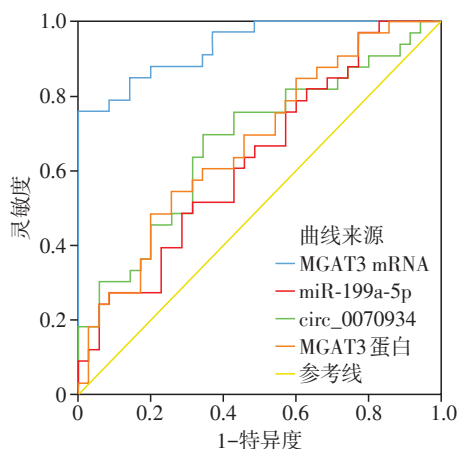


图4 MGAT3、miR-199a-5p和circ\_0070934作为CARAS生物标志物的ROC曲线分析

Figure 4 ROC curve analysis of MGAT3, miR-199a-5p and circ\_0070934 as CARAS biomarkers

研究报道,miR-199a-5p在中性粒细胞哮喘患者

外周血及诱导痰液中的表达升高,并且和肺功能呈负相关,但与外周血EOS无相关性<sup>[5]</sup>。本研究也未发现miR-199a-5p与CARAS患者EOS之间存在相关性,提示miR-199a-5p可能不参与调节EOS。但本研究发现CARAS患者的外周血circ\_0070934表达水平与EOS绝对计数和EOS比例都呈负相关,MGAT3的表达水平则与之呈正相关,提示circ\_0070934和MGAT3可能与EOS炎症密切相关,其具体机制有待进一步研究。

本研究用ROC曲线分析circ\_0070934、miR-199a-5p和MGAT3在CARAS中的诊断价值,发现MGAT3取界值为0.208时,灵敏度和特异度高(分别为73.7%和100.0%),为最佳参数。其次是circ\_0070934,取界值为0.620时,灵敏度为71.1%,特异度为69.8%。而miR-199a-5p则相对较低,取界值为1.166时,灵敏度为55.3%,特异度为72.1%。另外,

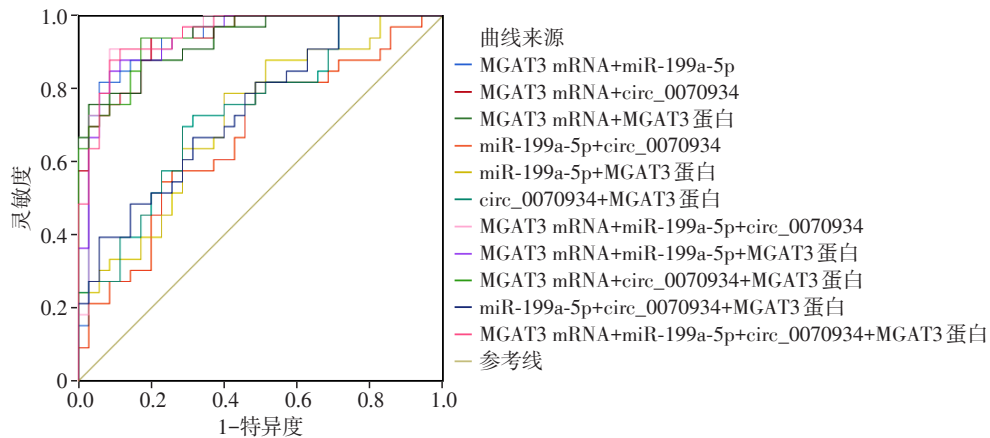


图5 MGAT3、miR-199a-5p和circ\_0070934作为CARAS生物标志物的多因素联合ROC曲线分析

Figure 5 Multivariate combined ROC curve analysis of MGAT3, miR-199a-5p and circ\_0070934 as CARAS biomarkers

本研究又对这些指标进行了多因素联合的ROC曲线分析,发现当circ\_0070934、miR-199a-5p和MGAT3 3个指标联合时,对CARAS的诊断价值最高,取界值为0.539时,灵敏度为92.1%,特异度为93.0%。可以看出,在单因素诊断CARAS时,MGAT3的诊断价值最高,但多因素联合诊断的价值要明显高于单因素,尤其是circ\_0070934、miR-199a-5p和MGAT3 3个检测指标联合后,对于CARAS的诊断有着非常重要的意义。因此,外周血circ\_0070934、miR-199a-5p和MGAT3都可以作为诊断CARAS的潜在生物标志物,值得扩大样本进一步验证。

上皮-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是上皮细胞呈现迁移性间充质表型的过程,EMT可分为3种类型, I型与胚胎着床、发育和器官形成相关, II型与损伤修复、组织再生、纤维化和炎症相关, III型参与了癌症的进展和转移。其中,与特异性疾病相关的II型EMT,对肺、鼻腔、肠道和皮肤的上皮更新和炎症有很大影响<sup>[9]</sup>。EMT对正常组织修复和通过多种炎症途径发出信号至关重要。支气管上皮细胞EMT的增加会导致支气管哮喘屏障功能障碍。支气管哮喘的典型特征即慢性气道炎症、气道重塑、气道高反应和可逆性气流受限,气道重塑过程涉及气道上皮细胞中纤维母细胞的增加,最终导致纤维化,而EMT可以解释这些纤维母细胞的起源<sup>[10]</sup>。EMT在过敏性鼻炎中的研究相对较少,并且大多数研究主要使用患者的慢性鼻窦炎组织,通过活检组织中EMT标志物将其分为发生鼻息肉和未发生鼻息肉的亚型<sup>[11]</sup>。

MGAT3基因最初在母鸡输卵管中被发现,由它

编码的N-乙酰氨基葡萄糖转移酶3(N-acetylglucosaminyltransferase III, Gnt III),参与了多种肿瘤的EMT过程,对肿瘤细胞的迁移有调控作用<sup>[12]</sup>。在TGF- $\beta$ 1诱导处理的人肝癌细胞中,Gnt III基因表达及其催化产物——平分型N-乙酰葡萄糖胺(N-acetylglucosamine, GlcNAc)结构降低,Smad3和Erk1/2的磷酸化上调,最终导致了肝细胞癌的EMT<sup>[13]</sup>。Pinho等<sup>[14]</sup>发现,MGAT3和Gnt III介导的E-cadherin的N-糖基化丢失是EMT的机制,在EMT过程中,MGAT3的表达显著降低。在宫颈癌中,MGAT3的过度表达导致上皮分化标志物E-cadherin的表达增加,间充质标志物N-cadherin和 $\beta$ -catenin的表达降低,从而抑制了宫颈癌细胞转移<sup>[15]</sup>。乳腺癌细胞中MGAT3的过度表达抑制了细胞迁移、增殖、集落形成、EMT标志物的表达和AKT信号通路<sup>[16]</sup>。另外,miR-199a-5p也在如卵巢癌、乳腺癌、喉癌、口腔鳞癌、甲状腺癌、结直肠癌、侵袭性膀胱癌等多种恶性肿瘤中表现出了抑制EMT的作用<sup>[17-23]</sup>。但在另外一些如肝细胞癌、胃癌、宫颈癌及前列腺癌等肿瘤中却也可促进肿瘤细胞EMT的过程<sup>[24-27]</sup>。

虽然目前已有许多研究证实miR-199a-5p和MGAT3这两种生物标志物在肿瘤细胞EMT过程中发挥了不可或缺的作用,但其是否参与CARAS的EMT过程,从而影响患者气道重塑过程尚未明确。而且对于circ\_0070934的研究较少,目前只知它参与了皮肤鳞状细胞癌的侵袭和增殖<sup>[28]</sup>,但具体机制尚不清楚。探索circ\_0070934/miR-199a-5p/MGAT3在CARAS EMT中的作用和机制将成为下一步研究的目标,这对于发现CARAS新的治疗靶点有着重要意义。

慢性鼻窦炎伴鼻息肉(chronic rhinosinusitis with nasal polyps, CRSwNP)常与支气管哮喘和鼻炎共存<sup>[29]</sup>。研究表明,哮喘使鼻息肉的风险增加了3.5倍,过敏性鼻炎则使患鼻息肉的风险增加2.5倍<sup>[30]</sup>。轻度和中度哮喘患者的鼻息肉患病率分别为4.8%和9.6%,而重症哮喘患者达到44.6%<sup>[31]</sup>。鼻息肉和哮喘共病(nasal polyps and comorbid asthma, NPCA)的患者有两种不同的炎症表型:嗜酸性和非嗜酸性,并且上下气道的炎症类型一致。与非嗜酸性NPCA患者相比,嗜酸性NPCA患者哮喘表型更严重,FeNO和IgE水平更高,血EOS增多,药物治疗后鼻息肉复发率也增加<sup>[32]</sup>。伴有CRSwNP的重症哮喘通常是一种高EOS类型,其特征是2型固有淋巴细胞(innate lymphoid cells, ILC2)激活,释放IL-5和IL-13,以及相对少量的IL-4<sup>[33]</sup>。这些细胞因子通过趋化EOS,促进气道炎症细胞浸润<sup>[34-36]</sup>。另一项研究也发现,EOS计数和FeNO水平低的重症哮喘患者鼻息肉的发生率显著低于数值较高者,EOS计数大于420个/ $\mu\text{L}$ 和FeNO水平 $\geq 39$  ppb是重症哮喘伴随鼻息肉的最佳预测因子<sup>[37]</sup>。鼻息肉的存在与哮喘患者的肺功能FEV<sub>1</sub>的加速下降显著相关<sup>[38]</sup>。因此,鼻息肉的存在对哮喘患者的症状、表型、类型、严重度及预后都有着显著影响,呼吸道过敏性疾病与鼻息肉同时存在无疑会加重炎症过程,使治疗受阻并复杂化,增加复发率。本研究并没有纳入鼻息肉,鉴于鼻息肉的存在与EOS和FeNO有正相关性,而本研究发现circ\_0070934/miR-199a-5p/MGAT3与EOS和FeNO有相关性,因此合理猜测circ\_0070934/miR-199a-5p/MGAT3与鼻息肉也存在某种联系,其具体作用机制值得进一步研究探讨。

综上所述,本研究发现circ\_0070934/miR-199a-5p/MGAT3可以作为CARAS诊断的生物标志物。CARAS的发生发展机制仍有许多未明晰的地方,本研究仅挑选circ\_0070934/miR-199a-5p/MGAT3作为切入点探索这些指标在CARAS患者外周血中的表达水平及其意义,其具体作用机制需进一步深入研究,为CARAS的早期诊断和治疗提供更多思路和理论支持。

#### [参考文献]

[1] PAPI A, BRIGHTLING C, PEDERSEN S E, et al. Asthma [J]. *Lancet*, 2018, 391(10122): 783-800  
[2] PAIVA FERREIRA L K D, PAIVA FERREIRA L A M, MONTEIRO T M, et al. Combined allergic rhinitis and

asthma syndrome (CARAS) [J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 74: 105718

- [3] GHAFOURI-FARD S, SHOOREI H, TAHERI M, et al. Emerging role of non-coding RNAs in allergic disorders [J]. *Biomed Pharmacoth*, 2020, 130: 110615  
[4] WANG X, CHEN H, LIU J, et al. Emerging advances of non-coding rnas and competitive endogenous rna regulatory networks in asthma [J]. *Bioengineered*, 2021, 12(1): 7820-7836  
[5] HUANG Y, ZHANG S, FANG X, et al. Plasma miR-199a-5p is increased in neutrophilic phenotype asthma patients and negatively correlated with pulmonary function [J]. *PLoS One*, 2018, 13(3): e0193502  
[6] CHENG L, CHEN J, FU Q, et al. Chinese society of allergy guidelines for diagnosis and treatment of allergic rhinitis [J]. *Allergy Asthma Immunol Res*, 2018, 10(4): 300-353  
[7] 中华医学会呼吸病学分会哮喘组. 支气管哮喘防治指南(2020年版)[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2020, 43(12): 1023-1048  
[8] XIA S, ZHU Z, GUAN W J, et al. Correlation between upper and lower airway inflammations in patients with combined allergic rhinitis and asthma syndrome: a comparison of patients initially presenting with allergic rhinitis and those initially presenting with asthma [J]. *Exp Ther Med*, 2018, 15(2): 1761-1767  
[9] KALLURI R, WEINBERG R A. The basics of epithelial-mesenchymal transition [J]. *J Clin Invest*, 2009, 119(6): 1420-1428  
[10] HOLGATE S T, DAVIES D E, PUDDICOMBE S, et al. Mechanisms of airway epithelial damage: epithelial-mesenchymal interactions in the pathogenesis of asthma [J]. *Eur Respir J Suppl*, 2003, 44: 24s-29s  
[11] ANDERSON E D, ALISHAHEDANI M E, MYLES I A. Epithelial-mesenchymal transition in atopy: a mini-review [J]. *Front Allergy*, 2020, 1: 628381  
[12] MIWA H E, SONG Y, ALVAREZ R, et al. The bisecting GlcNAc in cell growth control and tumor progression [J]. *Glycoconj J*, 2012, 29(8-9): 609-618  
[13] MO C, LIU T, ZHANG S, et al. Reduced N-acetylglucosaminyltransferase III expression via Smad3 and Erk signaling in TGF- $\beta$ 1-induced HCC EMT model [J]. *Discov Med*, 2017, 23(124): 7-17  
[14] PINHO S S, OLIVEIRA P, CABRAL J, et al. Loss and recovery of Mgat3 and GnT-III mediated E-cadherin N-glycosylation is a mechanism involved in epithelial-mesenchymal-epithelial transitions [J]. *PLoS One*, 2012, 7(3): e33191  
[15] YOU X, WANG Y, MENG J, et al. Exosomal miR663b ex-

- posed to TGFbeta1 promotes cervical cancer metastasis and epithelial mesenchymal transition by targeting MGAT3 [J]. *Oncol Rep*, 2021, 45(4):12
- [16] TAN Z, WANG C, LI X, et al. Bisecting N-acetylglucosamine structures inhibit hypoxia-induced epithelial-mesenchymal transition in breast cancer cells [J]. *Front Physiol*, 2018, 9:210
- [17] WANG X, LI X, LIN F, et al. The lnc-CTSLP8 upregulates CTSL1 as a competitive endogenous RNA and promotes ovarian cancer metastasis [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2021, 40(1):151
- [18] PIASECKA D, BRAUN M, KORDEK R, et al. MicroRNAs in regulation of triple-negative breast cancer progression [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2018, 144(8):1401-1411
- [19] LI D J, WANG X, YIN W H, et al. MiR-199a-5p suppresses proliferation and invasion of human laryngeal cancer cells [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(23):12200-12207
- [20] JIANG X, LIU J, LI S, et al. CCL18-induced LINC00319 promotes proliferation and metastasis in oral squamous cell carcinoma via the miR-199a-5p/FZD4 axis [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(9):777
- [21] HAO F, BI Y N, WANG L, et al. miR-199a-5p suppresses epithelial-mesenchymal-transition in anaplastic thyroid carcinoma cells via targeting Snail signals [J]. *Cancer Biomark*, 2020, 29(3):317-326
- [22] TIAN L, CHEN M, HE Q, et al. MicroRNA199a5p suppresses cell proliferation, migration and invasion by targeting ITGA3 in colorectal cancer [J]. *Mol Med Rep*, 2020, 22(3):2307-2317
- [23] ZHOU Y, SONG X, LI X, et al. Serum LUCAT1 implicates the pathogenesis of muscle-invasive bladder cancer via targeting miR-199a-5p and miR-199b-5p [J]. *J Mol Histol*, 2020, 51(5):583-591
- [24] YIN D, HU Z Q, LUO C B, et al. LINC01133 promotes hepatocellular carcinoma progression by sponging miR-199a-5p and activating annexin A2 [J]. *Clin Transl Med*, 2021, 11(5):e409
- [25] WANG Y, WANG H, ZHENG R, et al. Circular RNA ITCH suppresses metastasis of gastric cancer via regulating miR-199a-5p/Klotho axis [J]. *Cell Cycle*, 2021, 20(5-6):522-36
- [26] QU D, YANG Y, HUANG X. miR-199a-5p promotes proliferation and metastasis and epithelial-mesenchymal transition through targeting PIAS3 in cervical carcinoma [J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(8):13562-13572
- [27] TSENG J C, HUANG S H, LIN C Y, et al. ROR2 suppresses metastasis of prostate cancer via regulation of miR-199a-5p-PIAS3-AKT2 signaling axis [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(5):376
- [28] ZHANG D W, WU H Y, ZHU C R, et al. CircRNA hsa\_circ\_0070934 functions as a competitive endogenous RNA to regulate HOXB7 expression by sponging miR12363p in cutaneous squamous cell carcinoma [J]. *Int J Oncol*, 2020, 57(2):478-487
- [29] FOKKENS W, DESROSIERS M, HARVEY R, et al. EPOS2020: development strategy and goals for the latest European position paper on rhinosinusitis [J]. *Rhinology*, 2019, 57(3):162-168
- [30] WOJAS O, ARCIMOWICZ M, FURMANCZYK K, et al. The relationship between nasal polyps, bronchial asthma, allergic rhinitis, atopic dermatitis, and non-allergic rhinitis [J]. *Postepy Dermatol Alergol*, 2021, 38(4):650-656
- [31] MICHELETTO C, VISCONTI M, TREVISAN F, et al. The prevalence of nasal polyps and the corresponding urinary LTE4 levels in severe compared to mild and moderate asthma. [J]. *Eur Ann Allergy Clin Immunol*, 2010, 42(3):120-124
- [32] WU D, LI L, ZHANG M, et al. Two inflammatory phenotypes of nasal polyps and comorbid asthma [J]. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2017, 118(3):318-325
- [33] YILMAZ I, BAHCECIOGLU S N, TURK M, et al. Last station in the eosinophilic asthma with chronic rhinosinusitis and/or nasal polyposis march: eosinophilic asthma with radiological findings associated with blood eosinophilia [J]. *J Asthma*, 2019, 56(2):111-117
- [34] TOMASSEN P, VANDEPLAS G, VAN ZELE T, et al. Inflammatory endotypes of chronic rhinosinusitis based on cluster analysis of biomarkers [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2016, 137(5):1446-1449
- [35] INGRAM J L, KRAFT M. IL-13 in asthma and allergic disease: asthma phenotypes and targeted therapies [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2012, 130(4):829-842
- [36] VAN ZELE T, GEVAERT P, HOLTAPPELS G, et al. Local immunoglobulin production in nasal polyposis is modulated by superantigens [J]. *Clin Exp Allergy*, 2007, 37(12):1840-1847
- [37] MANISCALCO M, CALABRESE C, D'AMATO M, et al. Association between exhaled nitric oxide and nasal polyposis in severe asthma [J]. *Respir Med*, 2019, 152:20-24
- [38] COUMOU H, WESTERHOF G A, DE NIJS S B, et al. Predictors of accelerated decline in lung function in adult-onset asthma [J]. *Eur Respir J*, 2018, 51(2).1701785

[收稿日期] 2022-02-06

(本文编辑:陈汐敏)